

PATENT
Attorney Docket No. 81847
Customer No. 23685

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:)
IVARS KALVINS ET AL.)
Serial No.: 10/089,039) Group Art Unit: 1626
Filed: September 23, 2002) Examiner: Andrea D. Souza Small
For: 1-AZIRIDINO-1-HYDROXY-) Confirmation No.: 9469
IMINOMETHYL-DERIVATES,)
METHOD FOR THE PRO-)
DUCTION THEREOF AND)
MEDICAMENTS CONTAINING)
SAID COMPOUNDS)

Mail Stop Fee Amendment
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

TRANSMITTAL OF CERTIFIED COPY

Enclosed herewith please find a certified copy of the following foreign application from
which priority is claimed for this case:

Country: Germany

Application Number: 199 47 440.0

Filing Date: September 24, 1999

If there are any fees due in connection with the filing of this paper that are not accounted for,
the Examiner is authorized to charge the fees to our Deposit Account No. 11-1755. If a fee is

required for an extension of time under 37 C.F.R. 1.136 that is not accounted for already, such an extension of time is requested and the fee should also be charged to our Deposit Account.

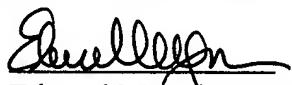
Respectfully submitted,

Kriegsman & Kriegsman

By: 
Edward M. Kriegsman
Reg. No. 33,529
665 Franklin Street
Framingham, MA 01702
(508) 879-3500

Dated: March 29, 2004

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service as first class mail in an envelope addressed to: Mail Stop Fee Amendment, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 on March 29, 2004


Edward M. Kriegsman
Reg. No. 33,529
Dated: March 29, 2004

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 199 47 440.0

Anmeldetag: 24. September 1999

Anmelder/Inhaber: AnalytiCon Discovery GmbH, 14473 Potsdam/DE
Erstanmelder:
AnalytiCon AG Biotechnologie-Pharmazie,
10589 Berlin/DE

Bezeichnung: 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate,
Verfahren zu deren Herstellung und diese
Verbindungen enthaltende Arzneimittel

IPC: C 07 D 203/08

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. Februar 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Remus".

Remus

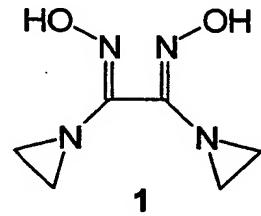
**1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate,
Verfahren zu deren Herstellung
und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel**

5

Die vorliegende Erfindung betrifft 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate, Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel.

10 Im Stand der Technik ist bisher nur ein Bisaziridinoxim der Formel I (BN 14809) bekannt (Anrianov, V.G., Eremeev, A.V., Zh. Org. Khim. (1991), 27, 112-16, Eremeev, A.V., Piskunova, I.P., Andrianov, V.G., Liepins, E., Khim, Geterotsikl. Soedin (1982), (4) 488-94).

15

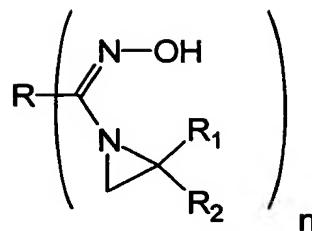


Von den biologischen Eigenschaften dieser Verbindung ist bisher nichts berichtet worden.

20

25 Ferner sind aus der DE-OS 21 32 598 u.a. Aziridinoxime bekannt, welche als Herbicide verwendet werden. In der WO 97/16439 werden gleichfalls Aziridinoxime beschrieben, welche zur Behandlung von Erkrankungen verwendet werden, die mit der Funktion des Chaperon-Systems in Verbindung stehen. Keinesfalls sind Bis-, Tris- oder gar Tetra-Aziridinoxime beschrieben worden.

30 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel I



I

5 sowie ein Verfahren zu deren Herstellung zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe ist es, Arzneimittel die eine Verbindung der allgemeinen Formel I enthalten, zur Verfügung zu stellen.

In der allgemeinen Formel I bedeutet R ein Di-, Tri- oder Tetraradikal,

10 R₁ und R₂ stehen unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH₃, -C₂H₅, -CN, -COOH, -COOCH₃, -COOC₂H₅, -CONH₂ oder -C₆H₅ Gruppe,

n ist eine ganze Zahl 2, 3 oder 4

15 Von der allgemeinen Formel umfaßt sind ferner deren inter- oder intramolekulare Komplexe mit Übergangsmetallionen, wobei in diesem Fall R auch für eine Einfachbindung steht, wobei dann n die ganze Zahl 2 bedeutet.

20 Bevorzugt ist es, daß R ein Di-, Tri- oder Tetraradikal ist, dessen Grundkörper ausgewählt ist aus linearen oder verzweigten und gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroalkanen mit bis zu 6 C-Atomen und mit bis zu vier Heteroatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind, C₃-C₈-Cycloalkanen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettige C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten

Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind,

heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen,

5 aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind und

10 Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen.

Besonders bevorzugt ist es dabei, daß der Grundkörper von R ausgewählt ist aus Methyl, Ethan, Ethen, Ethin, Propan,

15 Isopropan, Butan, Isobutan, sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin, Cyclopropan, Cyclobutan, Cyclopentan, Cyclohexan, Cycloheptan, Cyclooctan, Aziridin, Azetidin, Oxiran, Oxaziran, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin, Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazolin,

20 Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothiazolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydropuran, Tetrahydrofuran,

Benzofuran, Thiophen, Benzothiophen, Oxazol, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoxazol, Isoxazol, Isoxazolin, Isoxazolidin,

25 Piperidin, Piperazin, Pyrimidin, Morpholin, Dihydro- pyran, Tetrahydropyran, Pyridazin, Benzol, Furoxan, Imidazol, Imidazolin, Imidazolidin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin, Indol, Isoindol, Indolizidin, Benzimidazol, Chinolin, Isochinolin, Indazol, Benzotriazol, Fu-

30 razan, Oxadiazol, Thiadiazol, Purin. Dabei ist klar, daß die jeweiligen Heteroatome an beliebigen Stellen im Ring positioniert sind.

35 Weiterhin bevorzugt ist es, daß R₁ und R₂ unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest -CONH₂ darstellen.

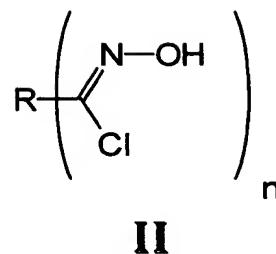
Bevorzugt sind außerdem 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate, bei denen das Übergangsmetallion Cu^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} oder Zn^{2+} ist.

5

Ganz besonders bevorzugt sind

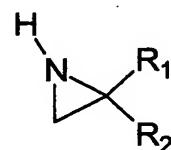
2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6),
1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),
1,4-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-
10 benzol (8),
1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9),
1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10),
1,3-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-
benzol (11),
15 2,6-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-
pyridin (12),
3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13),
2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14),
2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15),
20 2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16),
3,4-Bis-[(aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17),
Bis-(diaziridinoglyoximato) kupfer (18),
Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (19),
Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (20),
25 2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (21) und
2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxy-
imino]propan (22).

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist
30 ein Verfahren zur Herstellung von erfindungsgemäßen 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivaten, wobei man in an sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemeinen Formel II



worin R und n die oben angegebene Bedeutung haben,
mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III

5



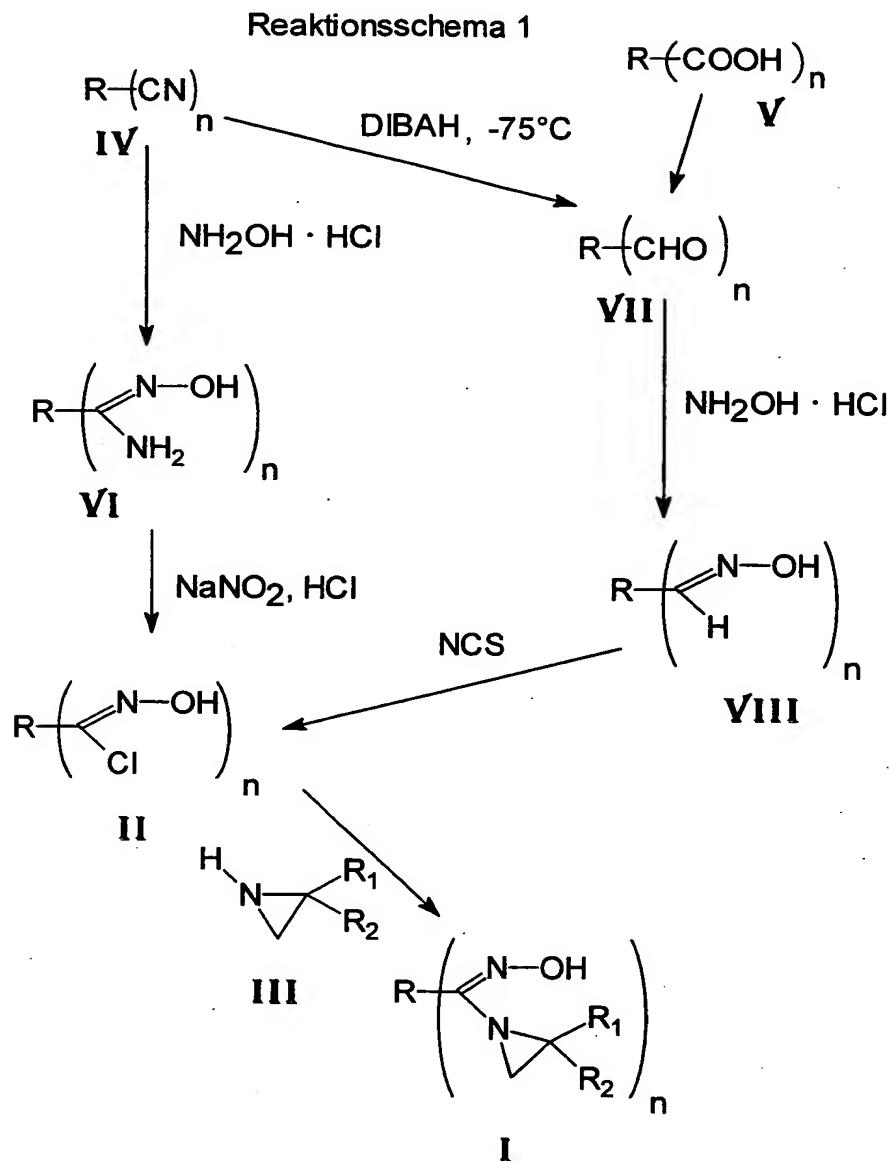
III

worin R_1 und R_2 die oben angegebene Bedeutung haben, um-
setzt

10 und gegebenenfalls die so erhaltenen Verbindung mit einer
Lösung eines Übergangsmetallions weiter zu den entspre-
chenden Komplexverbindungen umsetzt.

15 Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I lassen
sich nach dem Formelschema 1 in an sich bekannter Weise
herstellen. Zu diesem Zweck werden Nitrile der allgemei-
nen Formel IV durch Reaktion mit Hydroxylamin-
Hydrochlorid in die Carboxamidoxime der allgemeinen
Struktur VI überführt. Durch Diazotierung im salzauren
20 Milieu werden die chlorierten Oxime der Struktur II er-
halten, die anschließend durch Reaktion mit Aziridinen
der Formel III in die erfindungsgemäßen Verbindungen der
Formel I überführt werden können. Alternativ kann, wie im
Formelschema 1 angegeben, die Synthese ausgehend von den
25 Carbonsäuren V über in der Literatur beschriebene Stan-
dardverfahren durchgeführt werden. Das experimentelle

Verfahren ist für die Sequenz IV → VI → II → I in den Beispielen angegeben.



5

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I.

10 Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch Arzneimittel zur oralen, rektalen, subcutanen, intravenösen

oder intramuskulären Applikation, die neben üblichen Träger- und Verdünnungsmitteln eine Verbindung der allgemeinen Formel I als Wirkstoff enthalten.

5 Geeignete Zubereitungsformen und deren Herstellung ist an sich bekannt und beispielsweise beschrieben in „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“, Springer Verlag - Berlin - Heidelberg, 1991, Band 2, S. 622ff.

10 Die Arzneimittel der Erfindung werden mit den üblichen festen oder flüssigen Trägerstoffen oder Verdünnungsmitteln und den üblicherweise verwendeten pharmazeutisch-technischen Hilfsstoffen entsprechend der gewünschten Applikationsart mit einer geeigneten Dosierung in bekannter Weise hergestellt. Die bevorzugten Zubereitungen bestehen in einer Darreichungsform, die zur oralen Applikation geeignet ist. Solche Darreichungsformen sind beispielsweise Tabletten, Filmtabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Pulver, Lösungen oder Suspensionen oder Depotformen.

15 20 Selbstverständlich kommen auch parenterale Zubereitungen wie Injektionslösungen in Betracht. Weiterhin seien als Zubereitungen beispielsweise auch Suppositorien genannt.

25 30 35 Entsprechende Tabletten können beispielsweise durch Mischen des Wirkstoffs mit bekannten Hilfsstoffen, beispielsweise inerten Verdünnungsmitteln wie Dextrose, Zucker, Sorbit, Mannit, Polyvinylpyrrolidon, Sprengmitteln wie Maisstärke oder Alginsäure, Bindemitteln wie Stärke oder Gelantine, Gleitmitteln wie Magnesiumstearat oder Talk und/oder Mitteln zur Erzielung eines Depoteffektes wie Carboxylpolymethylen, Carboxylmethylcellulose, Celluloseacetatphthalat oder Polyvinylacetat, erhalten werden. Die Tabletten können auch aus mehreren Schichten bestehen.

Entsprechend können Dragees durch Überziehen von analog den Tabletten hergestellten Kernen mit üblicherweise in Drageeüberzügen verwendeten Mitteln, beispielsweise Polyvinylpyrrolidon oder Schellack, Gummiarabicum, Talk, 5 Titandioxid oder Zucker, hergestellt werden. Dabei kann auch die Drageehülle aus mehreren Schichten bestehen, wobei die oben bei den Tabletten erwähnten Hilfsstoffe verwendet werden können.

10 Lösungen oder Suspensionen mit dem erfindungsgemäßen Wirkstoff können zusätzlich geschmacksverbessernde Mittel wie Saccharin, Cyclamat oder Zucker sowie z. B. Aroma-stoffe wie Vanillin oder Orangenextrakt enthalten. Sie können außerdem Suspendierhilfsstoffe wie Natriumcarboxymethylcellulose oder Konservierungsstoffe wie p-Hydroxybenzoate enthalten. Wirkstoffe enthaltende Kapseln können beispielsweise hergestellt werden, indem man den Wirkstoff mit einem inerten Träger wie Milchzucker oder Sorbit mischt und in Gelatinekapseln einkapselt.

20 Geeignete Suppositorien lassen sich beispielsweise durch Vermischen mit dafür vorgesehenen Trägermitteln wie Neutralfetten oder Polyäthylenglykol bzw. deren Derivaten herstellen.

25 Selbstverständlich kommen auch transdermale therapeutische Systeme (TTS) in Betracht.

30 Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigen antitumorale Wirksamkeit. In der Tabelle 1 sind die antitumoralen Aktivitäten einiger erfindungsgemäßer Verbindungen im Monolayer-Zytoxitätstest an ausgewählten Zelllinien dargestellt. Überraschend ist dabei die geringe Empfindlichkeit von Fibroblasten und Endothelzellen bei 35 der Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen

Tabelle 1:

Antitumorale Wirksamkeit ausgewählter erfindungsgemäßer Verbindungen

Substanz IC ₅₀ [μ g/ml]	<u>6</u>	<u>14</u>	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>16</u>
Organ/Zelllinie						
Kolon HT29	0.117	0.200	0.258	0.329	0.670	0.481
Magen GXF 251L	0.020	0.717	0.542	1.506	3.964	1.661
Lunge LXFL 529	0.027	0.006	0.038	0.063	0.100	0.099
Brust 401NL	0.207	0.011	0.018	0.060	0.043	0.039
Niere 944LL	0.115	0.198	0.348	0.788	0.750	1.359
Uterus 1138L	0.014	0.034	0.038	0.066	0.111	0.073

5

Von der erfindungsgemäßen Verbindungen 6 (BN 14808) wurden an insgesamt 12 Zelllinien (Tabelle 3) die mittleren IC₅₀-Werte im Vergleich zum Therapiestandard 5-Fluor-Uracil ermittelt (5FU) (siehe Tabelle 2).

10

Aus diesen Werten geht eine deutliche Überlegenheit der erfindungsgemäßen Verbindung gegenüber dem Therapiestandard hervor.

15

Tabelle 2

Vergleich der antitumoralen Wirkung von (6) mit dem Therapiestandard 5-Fluoruracil (5FU)

Verbindung	IC ₅₀ [μ g/ml]
(6) (BN 14808)	0,030
5FU	0,054

Tabelle 3

Verwendete Tumorzelllinien

Tumor	Zelllinie
Brust	MAXF 401NL
	MCF-7
Kolon	HT29
Magen	GXF251L
Lunge	LXFA 629L
	LXFE66L
	LXFL529
Melanom	MEXF 462NL
	MEXF 514L
Eierstock	OVCAR3
Niere	RXF 944L
Uterus	UXF 1138L

Die nachfolgende Beispiele erläutern die Erfindung.

5

Beispiele

Beispiel 1

Darstellung von 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyimino-methyl)pyridin (6) (BN 14808)

Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim

Zu einer Lösung von Hydroxylamin-Hydrochlorid (18,07 g; 26 mmol) und NaOH (10,40 g; 26 mmol) in H₂O (90 ml) wird unter starkem Rühren eine Lösung von Pyridin-2,6-

dicarbonitril (12,9 g; 10mmol) in Ethanol (60 ml) getropft. Eine exotherme Reaktion tritt ein, anschließend wird 1,5 h bei 40-50°C weitergerührt. Nach Abkühlen wird der Niederschlag abfiltriert und mit H₂O gewaschen. Man erhält nach dem trockenen 16,5 g (85% d. Tr.) Produkt.

M.p. 237-239°C. 1H-NMR (DMSO-d₆): δ 6,20 (4H, s, NH₂); 7,76 (3H, s, C₅H₃N); 9,76 (2H, s, OH), -CHN (%) gef.: C 43,6; H 4,5; N 35,9-ber: C 43,1; H 4,6; N 35,9.

Pyridin-2,6-dihydroxamic-dichlorid

Zu einer gekühlten Lösung von Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim (1,95 g; 10 mmol) in verdünnter HCl (20 ml conc. HCl + 8 ml H₂O) wird unter Rühren vorsichtig eine Lösung von NaNO₂ (1,78 g; 25 mmol) in H₂O (5 ml) getropft. Nach 1,5 h bei 0-10°C wird die Lösung 12h bei Raumtemperatur weiter gerührt. Anschließend wird der Niederschlag abfiltriert und mit H₂O gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 2,0 g (79% d. Tr.) Produkt. M.p. 168-170°C (Zers.). - ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ 8,00 (3H, s, C₅H₃N); 12,7 (2H, s, OH). - CHN (%): gef. C 33,7; H 2,2; N 16,6 - ber.: C 33,3; H 2,2; N 16,7.

2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Aziridin (0,65 g; 15 mmol) und N(C₂H₅)₃ (2,0 g; 20 mmol) in Acetonitril (20 ml) wird unter Rühren tropfenweise eine Suspension von Pyridin-2,6-dihydroxamicdichlorid (1,26 g; 5 mmol) in CH₃CN (20 ml) gegeben. Man röhrt 90 min. nach und filtert vom ausgefallenen Triethylamin-Hydrochlorid ab. Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt und mit Essigester versetzt. Man filtriert erneut und wäscht das Produkt mit CHCl₃ nach. Man erhält 0,76 g (60% d. Tr.) an Produkt. M.p. 194-196°C (Zers.). ¹H-NMR: δ 2,31 (8H, s, CH₂); 7,73 (3H, s, C₅H₃N); 10,64 (2H, s, OH). CHN (%): gef.: C 52,4; H 5,3; N 27,5 (C₁₁H₁₃N₅O₂ x 0,25 H₂O) - ber.: C 52,5; H 5,4; N 27,8.

In analoger Weise erhält man die folgenden Verbindungen:

Beispiel 2

1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7) (BN 14992)

M.p. 220-222°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,20 (8H, s, CH_2); 7,00 (4H, s, C_6H_4); 12,6 (2H, s, OH). CHN (%): gef.: C 58,3; H 5,9; N 22,4 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

5 Beispiel 3

1,4-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-benzol (8) (BN 14972)

M.p. 248-250°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,36 (4H, s, CH_2); 2,82 (2H, m, CH); 7,16 und 7,47 (jeweils 2H, s, s, NH_2); 7,64 (4H, s, C_6H_4); 10,6 (2H, s OH). CHN (%): gef.: C 50,3; H 4,9; N 24,9 ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4$) - ber.: C 50,6; H 4,8; N 25,3.

Beispiel 4

1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9) (BN 14985)

M.p. 179-181°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,17 (8H, s, CH_2); 7,31 (1H, t, C_6H); 7,62 (2H, d, C_6H_2); 8,11 (1H, s, C_6H); 11,3 (2H, s, OH). CHN (%): gef.: C 58,7; H 5,8; N 22,3 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

20 Beispiel 5

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10) (BN 14989)

M.p. >300°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,16 (12H, s, CH_2); 8,00 (3H, s, C_6H_3); 11,4 (3H, s, OH). CHN (%): gef.: C 54,1; H 5,4; N 25,0 ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_3$) - ber.: C 54,5; H 5,5; N 25,4.

Beispiel 6

1,3-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-benzol (11) (BN 14974)

M.p. 209-211°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,38 (4H, m, CH); 3,02 (2H, m, CH); 7,16 und 7,42 (jeweils 2H, s, s, NH_2); 7,42 (1H, t, C_6H); 7,91 (1H, t, C_6H); 10,6 (2H, m, OH). CHN (%): gef.: C 45,9; H 5,3; N 22,8 ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) - ber.: C 45,6; H 5,5; N 22,8.

Beispiel 7

2,6-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12) (BN 14971)

M.p. 206-208°C (Zers.). 1 H-NMR: δ 2,38 (4H, m, CH_2); 2,96 (2H, m, CH); 7,11 und 7,40 (jeweils 2H, ss, NH_2); 7,76 (3H, s, $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}$); 10,78 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,6; H 4,6; N 29,0 ($\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_4$) - ber.: C 46,8; H 4,5; N 29,4.

Beispiel 8

3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13) (BN 14986)

M.p. >300°C (Zers.). 1 H-NMR: δ 2,27 (8H, s, CH_2); 8,29 (1H, t, 4- C_5HN); 8,78 (2H, d, 2,6- $\text{C}_5\text{H}_2\text{N}$); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,7; H 5,1; N 28,2 ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

Beispiel 9

2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14) (BN 14987)

M.p. 190-192°C (Zers.). 1 H-NMR: δ 2,22 (4H, s, CH_2); 2,26 (4H, s, CH_2); 7,76 (1H, d, C_5HN); 7,96 (1H, d, C_5HN); 8,78 (1H, s, C_5HN); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,8; H 5,2; N 28,0 ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

Beispiel 10

2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15) (BN 14988)

M.p. >300°C (Zers.). 1 H-NMR: δ 2,20 (8H, s, CH_2); 7,53 (1H, dd, C_5HN); 8,16 (1H, d, C_5HN); 8,51 (1H, d, C_5HN); 11,6 (1H, s, OH); 11,8 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,4; H 5,5; N 28,0 ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

Beispiel 11

2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16) (BN 14991)

M.p. 182-184°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,22 (8H, s, CH_2); 6,78 (2H, s, $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}$); 10,5 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 47,3; H 5,6; N 22,1 ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$) - ber.: C 47,2; H 5,6; N 22,0.

5 Beispiel 12

3,4-Bis-[(aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17) (BN 14997)

M.p. >300°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 2,18 (4H, s, CH_2); 2,43 (4H, s, CH_2); 11,1 (1H, s, OH); 11,4 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 38,2; H 4,2; N 32,9 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_4$) - ber.: C 37,8; H 4,0; N 33,1.

Beispiel 13

Bis-(diaziridinoglyoximato)kupfer (18) (BN 14998)

M.p. 157°C (expl.). CHN (%) gef.: C 35,6; H 4,3; N 27,5 ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{CuN}_8\text{O}_4$) - ber.: C 35,9; H 4,5; N 27,9.

Beispiel 14

Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (19) (BN 14970)

M.p. 212-214°C. $^1\text{H-NMR}$: δ 2,36 (4H, m, CH_2); 2,96 (2H, m, CH); 3,62 (6H, s, CH_3); 10,71 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 42,3; H 5,0; N 19,3 ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6$) - ber.: C 42,0; H 4,9; N 19,6.

25 Beispiel 15

Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (20) (BN 14968)

M.p. >300°C. $^1\text{H-NMR}$: δ 2,28 (1H, m, CH); 2,40 (1H, m, CH); 2,83 (1H, m, CH); 7,09 und 7,24 (jeweils 1H, s, s, NH_2); 10,65 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 37,1; H 4,8; N 32,1 ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_4$) - ber.: C 37,5; H 4,7; N 32,8.

Beispiel 16

2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (21) (BN 14984)

5 M.p. 172-174°C. $^1\text{H-NMR}$: δ 1,91 (6H, s, CH_3); 2,20 (8H, s, CH_2); 10,9 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,4; H 4,5; N 32,2 ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$) - ber.: C 46,0; H 6,6; N 32,2.

Beispiel 17

10 2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxyimino]-propan (22) (BN 14975)

15 M.p. 242-244°C (Zers.). $^1\text{H-NMR}$: δ 1,98 (6H, s, CH_3); 2,53 (2H, s, CH_2); 2,53 (2H, m, CH_2); 2,89 (2H, m, CH); 7,04 und 7,22 (jeweils 2H, ss, NH_2); 11,02 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 41,6; H 5,4; N 32,1 ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_4 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$) - ber.: C 41,5; H 5,5; N 32,3.

Beispiel 18

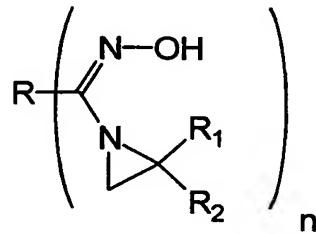
20 Zur Untersuchung der antiproliferativen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde ein modifizierter Propium-Iodid-Assay (Dengler, W.A., Schulte, J, Berger, P.B., Mertelmann, R., Fiebig, H.H.: Anti-Cancer Drugs 6, 522-532, (1995)) wie nachfolgend beschrieben durchgeführt:

25 Tumorzellen aus in der exponentiellen Wachstumsphase befindlichen Zellkulturen, (RPMI Medium, 10% FCS) wurden geerntet, gezählt und in 96 well Microtiterplatten ($140\mu\text{L}$ Zell Suspension, 1×10^5 oder 5×10^4 Zellen/mL) überführt. Nach einer Zeitspanne von 24 h, in der die Zellen ihr exponentielles Wachstum wieder aufnahmen, wurden jeweils 30 $10\mu\text{L}$ der in Medium gelösten Testsubstanzen zugefügt (Jede Testkonzentration wurde dreifach bestimmt). Nach 3-6 Tagen Inkubationszeit (in Abhängigkeit von der Verdoppelungsrate der Zellen) wurde das Kulturmedium gegen $200 \mu\text{L}$ eines frischen Mediums, welches Propidium- Iodid ($25\mu\text{g/mL}$) enthielt, ausgetauscht. Die Mikrotiterplatten wurden dann 24

Stunden bei -18°C gelagert, um einen kompletten Zelltod zu erreichen. Nach dem Auftauen der Platten wurde die Fluoreszenz mittels eines Millipore Cytoflour 2350 (Anregung 530 nm, Emission 620 nm) gemessen. Die IC₅₀-
5 Werte der Testverbindungen wurden gemäß der publizierten Formel berechnet. Konnte eine IC₅₀ nicht innerhalb der untersuchten Dosis Einheiten bestimmt werden, wurde die jeweils niedrigste bzw. höchste untersuchte Konzentration für die Kalkulation benutzt.

Patentansprüche

1. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel I



I

worin

10 R ein Di-, Tri- oder Tetraradikal bedeutet,

15 R₁ und R₂ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH₃, -C₂H₅, -CN, -COOH, -COOCH₃, -COOC₂H₅, -CONH₂ oder -C₆H₅ Gruppe stehen,

n eine ganze Zahl 2, 3 oder 4 ist

20 sowie deren inter- oder intramolekulare Komplexe mit Übergangsmetallionen, wobei in diesem Fall R auch für eine Einfachbindung steht, wobei dann n die ganze Zahl 2 bedeutet.

25 2. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R ein Di-, Tri- oder Tetraradikal ist, dessen Grundkörper ausgewählt ist aus

30 linearen oder verzweigten und gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroalkanen mit bis zu 6 C-

Atomen und mit bis zu vier Heteroatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind,

5 C₃-C₈-Cycloalkanen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind,

10 heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen,

15 aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettige C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, Aryl- mit bis zu 8 C-Atomen, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind und

20 Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen.

25

3. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Grundkörper von R ausgewählt ist aus Methyl, Ethan, Ethen, Ethin, Propan, Isopropan, Butan, Isobutan, sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin, Cylopropan, Cyclobutan, Cyclopantan, Cyclohexan, Cycloheptan, Cyclooctan, Aziridin, Azetidin, Oxiran, Oxaziran, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin, Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazolin, Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothiazolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydropuran, Tetrahydropuran, Benzofuran,

Thiophen, Benzothiophen, Oxazol, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoxazol, Isoxazol, Isoxazolin, Isoxazolidin, Piperidin, Piperazin, Pyrimidin, Morpholin, Dihydropyran, Tetrahydropyran, Pyridazin, Benzol, Furoxan, 5 Imidazol, Imidazolin, Imidazolidin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin, Indol, Isoindol, Indolizidin, Benzimidazol, Chinolin, Isochinolin, Indazol, Benzotriazol, Furazan, Oxadiazol, Thiadiazol, Purin.

10

4. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß R₁ und R₂ unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest -CONH₂ darstellen.

15

5. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Übergangsmetallion Cu²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺ oder Zn²⁺ ist.

20

6. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, nämlich

2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6),

1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),

1,4-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-benzol (8),

1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9)

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10),

1,3-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-benzol (11),

2,6-Di-(α -2-carbamoylaziridino- α -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12),

3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13),

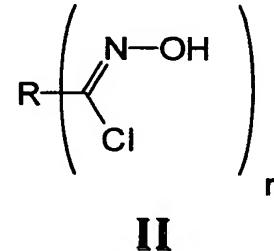
25

30

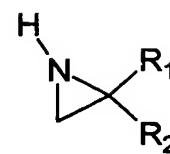
35

2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin
(14),
2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin
(15),
5 2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan
(16),
3,4-Bis-[(aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan
(17),
Bis-(diaziridinoglyoximato) kupfer (18),
10 Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (19),
Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (20),
2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (21)
und
2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxy-
15 imino]propan (22)

7. Verfahren zur Herstellung von 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivaten gemäß Anspruch 1, wobei man in an sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemeinen Formel II



worin R und n die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,
25 mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III

**III**

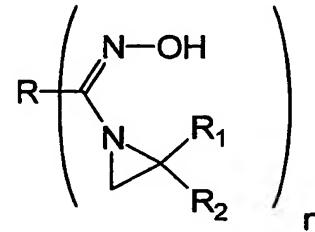
worin R_1 und R_2 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umsetzt

5 und gegebenenfalls die so erhaltenen Verbindung mit einer Lösung eines Übergangsmetallions weiter zu den entsprechenden Komplexverbindungen umsetzt.

10 8. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6.

Zusammenfassung

Beschrieben sind neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-
5 Derivate der allgemeinen Formel I



I

worin

10 R ein Di-, Tri- oder Tetraradikal bedeutet,
R₁ und R₂ unabhängig voneinander für ein Wasser-
stoffatom oder eine -CH₃, -C₂H₅, -CN, -COOH, -COOCH₃,
-COOC₂H₅, -CONH₂ oder -C₆H₅ Gruppe stehen,
n eine ganze Zahl 2, 3 oder 4 ist

15 sowie deren inter- oder intramolekulare Komplexe mit
Übergangsmetallionen, wobei in diesem Fall R auch für ei-
ne Einfachbindung steht, wobei dann n die ganze Zahl 2
bedeutet sowie ein Verfahren zu deren Herstellung und
diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel.

20

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigen antitu-
morale Wirkung.